

PHOTOSYNTHETIC REACTION CENTRAL PROTEIN IMMOBILIZED CHIP FOR DETECTING HERBICIDE

Publication number: JP2001083155 (A)

Publication date: 2001-03-30

Inventor(s): MIYAKE ATSUSHI; NAKAMURA CHIKASHI +

Applicant(s): AGENCY IND SCIENCE TECHN; MIYAKE ATSUSHI;
NAKAMURA CHIKASHI +

Classification:

- international: G01N21/27; G01N33/15; G01N33/53; G01N33/543; G01N21/25;
G01N33/15; G01N33/53; G01N33/543; (IPC1-7): G01N21/27;
G01N33/15; G01N33/543

- European:

Application number: JP19990258029 19990910

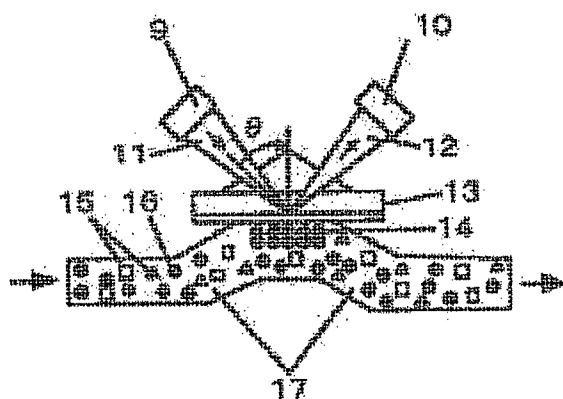
Priority number(s): JP19990258029 19990910

Also published as:

JP3689724 (B2)

Abstract of JP 2001083155 (A)

PROBLEM TO BE SOLVED: To measure a triazine herbicide by using an immobilized photosynthetic reaction central protein with a histidine tag at a chip substrate. **SOLUTION:** In a measuring chip, a photosynthetic reaction central protein with a histidine tag is immobilized to a chip substrate. The measuring chip is mounted on a surface plasmon resonance measuring device (SPR) and can be used to measure a triazine herbicide. First, the chip is mounted on the SPR measuring device. That is, the chip 13 is installed so that a transparent substrate is disposed above. Then, a sample liquid containing an admixture substance 15 and a substance 16 to be measured is fed through a channel 17. Then, a monochromatic light is irradiated from a light source 9 toward a transparent substrate of the chip 13 (incident light 11), and a reflected light 12 of a metal film provided at the chip 13 is incident to a detector 10. The detector 10 can detect an intensity of the reflected light 12.



(11) 特許公開番号
特開2001-83155
(P2001-83155A)
(43) 公開日 平成13年3月30日 (2001.3.30)

(6) InCl ⁺ G 0 1 N 39/543 21/27 39/15 39/53		識別記号 5 9 5	F I G 0 1 N 39/543 21/27 39/15 39/53		チーボト(参考) 5 9 5 2 G 0 5 9 C Z G D
(21) 出願番号		特願平11-258029	(71) 出願人		審査請求 有 請求項の数 5 O L (全 19 頁)
(22) 出願日		平成11年9月10日 (1999.9.10)	(71) 出願人		工業技術院長 東京都千代田区霞が関1丁目3番1号
特許法第30条第1項適用申請有り 平成11年3月15日 社団法人日本化学会発行の「日本化学会第76春季年会 1999年講演予報集▲11▼」に発表			(74) 上記1名の指定代理人		220000415 工業技術院産業技術総合研究所長
			(71) 出願人		三宅 洋 茨城県つくば市東1丁目1番4 工業技術 院 産業技術総合研究所内
			(71) 出願人		中村 史 院 産業技術総合研究所内
			(71) 出願人		院 産業技術総合研究所内

(54) 【発明の名称】 除草剤殺出のための光合成反応中心タンパク質固定化チップ

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 除草剤殺出のための光合成反応中心タンパク質固定化チップの提供。

【解決手段】 チップ基板にヒスチジンタグ付き光合成反応中心タンパク質が固定化されていることを特徴とする表面プラズモン共鳴測定用チップ及びそれを用いてアトランジンのトリプシン系除草剤を測定する方法。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 チップ基板にヒスチジンタグ付き光合成反応中心タンパク質を固定化してなることを特徴とする表面プラズモン共鳴測定用チップ。

【請求項2】 ヒスチジンタグが、光合成反応中心タンパク質のHサマユニットに結合してなるものである請求項1記載の表面プラズモン共鳴測定用チップ。

【請求項3】 チップ基板にヒスチジンタグ付き光合成反応中心タンパク質を固定化してなる表面プラズモン共鳴測定用チップの製造方法。

【請求項4】 チップ基板にヒスチジンタグ付き光合成反応中心タンパク質を固定化してなる表面プラズモン共鳴測定用チップを用いる、トリプシン系除草剤の測定方法。

【請求項5】 トリプシン系除草剤がアトランジンである請求項4記載の測定方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、チップ基板にヒスチジンタグ付き光合成反応中心タンパク質を固定化した表面プラズモン共鳴測定用チップ、該測定用チップの製造方法及び該測定用チップを用いるトリプシン系除草剤の測定方法に関する。

【0002】 これまで、検体中の微量物質を測定するために様々な方法が開発されてきた。なかでも、エンザイムイムノアッセイやラジオイムノアッセイなどの免疫反応を利用した測定法は、臨床検査等に広範囲に利用されている。しかしながら、これらの測定法は、目的物質を容易且つ高感度で測定できる反面、酵素、放射性物質、蛍光物質、発光物質、金属等で標識された物質を必要とするなどの煩雑さがあった。そこで、標識物質を必要としないアッセイ法として、目的物質に結合した抗体をレーザー光線の散乱により測定するレーザーイムノアッセイや寒天ゲル内で沈降線を形成させて測定するゲル内沈降反応測定法などが開発されているが、これらの方法では、エンザイムイムノアッセイやラジオイムノアッセイなどに比べ、高感度な測定は困難であった。

【0003】 最近、標識物質を必要とすることなく、目的物質を高感度で検出することのできる表面プラズモン共鳴(SPR:surface plasmon resonance)を利用した測定装置が開発された(Jonsson, U. (1991) Biotechniques 11, 620-627)。この測定装置は、物質を感じ取るセンサー部分に、目的物質と特異的に結合するリガンド(分子識別素)が固定化された測定用チップが装着されている。測定用チップは一般的に、図1に示すような構造を有している。すなわち、ガラス基板1上に成膜された金属膜2の上に、多孔性材料3が形成されており、この多孔性材料3の表面に、目的物質と結合する酵素、抗体などのリガンド4が担持又は固定されている。ここで、使

(2)

特開2001-83155
2

用するリガンドを測定対象物質に合わせて置き換えることによって、種々の表面プラズモン共鳴測定用チップを製造することが可能である。

【0004】 現在までに、ヘモグロビンAを測定するための表面プラズモン共鳴測定用チップ【特開平11-21172】、心筋梗塞マーカーを測定するための表面プラズモン共鳴測定用チップ【特開平11-21172】などが開発されている。また、トリプシン系除草剤を測定することが可能な表面プラズモン共鳴測定用チップについては、該除草剤の一つであるアトランジン測定用として抗アトランジン抗体を分子識別素として固定化したものが報告されているが、アトランジンは、分子量が215.5ダルトンと小さく、通常より共鳴シフトが小さいため、直接測定することは困難とされている。【特開平10-267834】。

【0005】 【発明が解決しようとする課題】 本発明は、トリプシン系除草剤を直接測定することが可能な表面プラズモン共鳴測定用チップ、該チップの製造方法及び該チップを用いたトリプシン系除草剤の測定方法を提供することを目的とする。

【0006】 【課題を解決するための手段】 本発明1からは、上記課題を解決するための提案事項を行った結果、表面プラズモン共鳴測定装置によるアトランジンの測定において、測定用チップとして、チップ基板にヒスチジンタグ付き光合成反応中心タンパク質を固定化したものを用いることにより、アトランジンを高感度で測定することに成功し、本発明を完成するに至った。

【0007】 すなわち、本発明は、チップ基板にヒスチジンタグ付き光合成反応中心タンパク質を固定化してなることを特徴とする表面プラズモン共鳴測定用チップである。ここで、ヒスチジンタグは、光合成反応中心タンパク質のHサマユニットに結合したものであり得る。

【0008】 さらに、本発明は、チップ基板にヒスチジンタグ付き光合成反応中心タンパク質を固定化してなることを特徴とする表面プラズモン共鳴測定用チップの製造方法である。さらに、本発明は、チップ基板にヒスチジンタグ付き光合成反応中心タンパク質を固定化してなる表面プラズモン共鳴測定用チップを用いる、トリプシン系除草剤(例えばアトランジン)の測定方法である。以下、本発明を詳細に説明する。

【0009】 【発明の実施の形態】 本発明の表面プラズモン共鳴測定用チップ(測定用チップともいう)は、チップ基板にヒスチジンタグ付き光合成反応中心タンパク質が固定化されているものであって、表面プラズモン共鳴測定装置(SPR測定装置ともいう)に装着して、トリプシン系除草剤の測定に用いることができるチップをいう。

【0010】 1. ヒスチジンタグ付き光合成反応中心タンパク質の調製

11 (7) 特開2001-83155

12

トリプシン系除草剤の測定

実施例2において製造した測定用チップを用いて、トリ
プシン系除草剤の1つであるアトラジン[®]の測定した。光
合成反応中心タンパク質を固定した測定チップを装着し
た測定セルに、0.01、0.1、1、10、又は100 mg/ml に
希釈したアトラジンを流速5 µl/分で10分間流しながら
光強度を測定し、共鳴シグナル(RD)を求めた。この結果
を図7に示した。図7に示すように、試料濃度を共鳴シ
グナルとの間には、正比例に類似した右肩上がりの関係*

SEQUENCE LISTING

<110> Koji Kajimura, Director-General of Agency of Industrial Science
and Technology ; Jun Miyake ; Chikashi Nakamura

<120> Photosynthetic reaction center protein immobilized chip for
herbicide detection

<130> 117P0094

<160> 16

<210> 1

<211> 783

<212> DNA

<213> Rhodospirillum rubrum

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(780)

<400> 1

atg gtt ggt gtg act gct ttt gga aac ttc ctg ggc tgg ctg ggc 48
Met Val Gly Val Thr Ala Phe Gly Asn Phe Asp Leu Ala Ser Leu Ala
1 5 10 15
atc tat agc ttc tgg atc ttc ctg ggc ggc ctg atc tac tac ctg cag 96
Ile Tyr Ser Phe Trp Ile Phe Leu Ala Gly Leu Ile Tyr Tyr Leu Gln
20 25 30
acc gag aac atg cgc gag ggc tat ccg ctg gag aac gag gac ggc acc 144
Thr Glu Asn Met Arg Glu Gly Tyr Pro Leu Glu Asn Glu Asp Gly Thr
35 40 45
ccg gcc ggc aac cag ggc ccg ttc ccg ctg ccg aag ccc aag acc ttc 192
Pro Ala Ala Asn Gln Gly Pro Phe Pro Leu Pro Lys Pro Lys Thr Phe
50 55 60
atc ctg ccc cac ggc cgc ggc aag ctg acc gtg ccc ggc ccg gaa agc 240
Ile Leu Pro His Gly Arg Gly Thr Leu Thr Val Pro Gly Pro Glu Ser
65 70 75 80
gaa gac cgg ccg atc cgc ctg cgc cgc acg gcc gtc tgg gaa ggc ttc 288
Glu Asp Arg Pro Ile Ala Leu Ala Arg Thr Ala Val Ser Glu Gly Phe
85 90 95
ccg cat ggc ccc acg ggc gac ccg atg aag gac ggc gtc ggc ccg gcc 336

(8)

13

14

Pro His Ala Pro Thr Gly Asp Pro Met Lys Asp Gly Val Gly Pro Ala
100 105 110
tcg tgg gtt ggc cgc cgt gac ctg ccc gaa ctg gac ggc cac ggc cac 384
Ser Trp Val Ala Arg Arg Asp Leu Pro Glu Leu Asp Gly His Gly His
115 120 125
aac aag atc aag ccg atg aag gcc gct gcc ggc ttc cac gtc tgg gcc 432
Asn Lys Ile Lys Pro Met Lys Ala Ala Ala Gly Phe His Val Ser Ala
130 135 140
ggc aag aac ccg atc ggc ctg ccc gtc cgc ggc tgc gat ctg gag atc 480
Gly Lys Asn Pro Ile Gly Leu Pro Val Arg Gly Cys Asp Leu Glu Ile
145 150 155 160
gcg ggc aag gtc gtg gac atc tgg gtc gac atc ccc gag cag atg gcc 528
Ala Gly Lys Val Val Asp Ile Trp Val Asp Ile Pro Glu Gln Met Ala
165 170 175
cgc ttc ctg gag gtc gaa ctg aag gac ggc tgc acc cgc ctg ctg ccg 576
Arg Phe Leu Glu Val Glu Leu Lys Asp Gly Ser Thr Arg Leu Leu Pro
180 185 190
atg cag atg gtc aag gtc cag tgc aac cgc gtc cat gtg aac ggc ctg 624
Met Gln Met Val Lys Val Glu Ser Asn Arg Val His Val Asn Ala Leu
195 200 205
tcg tcc gac ctg ttc ggc ggc atc ccg acg atc aag tcc ccg acc gag 672
Ser Ser Asp Leu Phe Ala Gly Ile Pro Thr Ile Lys Ser Pro Thr Glu
210 215 220
gtc acg ctg ctg gaa gag gac aag atc tgc ggc tac gtc ggc ggc ggc 720
Val Thr Leu Leu Glu Glu Asp Lys Ile Cys Gly Tyr Val Ala Gly Gly
225 230 235 240
ctg atg tat gcc ggc ccg aag cgc aag tgc gtc gtg ggc ggc atg ctg 768
Leu Met Tyr Ala Ala Pro Lys Arg Lys Ser Val Val Ala Ala Met Leu
245 250 255
gcc gaa tac gcc tga 783
Ala Glu Tyr Ala 260

<210> 2

<211> 260

<212> PRT

<213> Rhodospirillum rubrum

<400> 2

Met Val Gly Val Thr Ala Phe Gly Asn Phe Asp Leu Ala Ser Leu Ala
1 5 10 15
Ile Tyr Ser Phe Trp Ile Phe Leu Ala Gly Leu Ile Tyr Tyr Leu Gln
20 25 30
Thr Glu Asn Met Arg Glu Gly Tyr Pro Leu Glu Asn Glu Asp Gly Thr
35 40 45
Pro Ala Ala Asn Gln Gly Pro Phe Pro Leu Pro Lys Pro Lys Thr Phe
50 55 60
Ile Leu Pro His Gly Arg Gly Thr Leu Thr Val Pro Gly Pro Glu Ser
65 70 75 80
Glu Asp Arg Pro Ile Ala Leu Ala Arg Thr Ala Val Ser Glu Gly Phe

15 85 90 95 16
Pro His Ala Pro Thr Gly Asp Pro Met Lys Asp Gly Val Gly Pro Ala
100 105 110
Ser Trp Val Ala Arg Arg Asp Leu Pro Glu Leu Asp Gly His Gly His
115 120 125
Asn Lys Ile Lys Pro Met Lys Ala Ala Ala Gly Phe His Val Ser Ala
130 135 140
Gly Lys Asn Pro Ile Gly Leu Pro Val Arg Gly Cys Asp Leu Glu Ile
145 150 155 160
Ala Gly Lys Val Val Asp Ile Trp Val Asp Ile Pro Glu Glu Met Ala
165 170 175
Arg Phe Leu Glu Val Glu Leu Lys Asp Gly Ser Thr Arg Leu Leu Pro
180 185 190
Met Glu Met Val Lys Val Glu Ser Asn Arg Val His Val Asn Ala Leu
195 200 205
Ser Ser Asp Leu Phe Ala Gly Ile Pro Thr Ile Lys Ser Pro Thr Glu
210 215 220
Val Thr Leu Leu Glu Glu Asp Lys Ile Cys Gly Tyr Val Ala Gly Gly
225 230 235 240
Leu Met Tyr Ala Ala Pro Lys Arg Lys Ser Val Val Ala Ala Met Leu
245 250 255
Ala Glu Tyr Ala
260

<210> 3
<211> 801
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(798)

<400> 3
<223> A gene encoding the subunit H which was tagged with oligo-histid
ine.

atg gtt ggt gtg act gct ttt gga aac ttc gat ctg ggc tgc ctg ggc 48
Met Val Gly Val Thr Ala Phe Gly Asn Phe Asp Leu Ala Ser Leu Ala
1 5 10 15
atc tat agc ttc tgg atc ttc ctg ggc ggc ctg atc tac tac ctg cag 96
Ile Tyr Ser Phe Trp Ile Phe Leu Ala Gly Leu Ile Tyr Tyr Leu Glu
20 25 30
acc gag aac atg cgc gag ggc tat ccg ctg gag aac gag gac ggc acc 144
Thr Glu Asn Met Arg Glu Gly Tyr Pro Leu Glu Asn Glu Asp Gly Thr
35 40 45
cgc gcc ggc aac cag ggc ccg ttc ccg ctg ccg aag ccc aag acc ttc 192
Pro Ala Ala Asn Glu Gly Pro Phe Pro Leu Pro Lys Pro Lys Thr Phe
50 55 60

17 18
atc ctg ccc cac ggc cgc ggc acg ctg acc gtg ccc ggc ccg gaa agc 240
Ile Leu Pro His Gly Arg Gly Thr Leu Thr Val Pro Gly Pro Glu Ser
65 70 75 80
gaa gac cgg ccg atc cgc ctg cgc cgg acg ggc gtc tgc gaa ggc ttc 288
Glu Asp Arg Pro Ile Ala Leu Ala Arg Thr Ala Val Ser Glu Gly Phe
85 90 95
cgc cat ggc ccc acg ggc gac ccg atg aag gac ggc gtc ggc ccg gcc 336
Pro His Ala Pro Thr Gly Asp Pro Met Lys Asp Gly Val Gly Pro Ala
100 105 110
tgc tgg gtt ggc cgc cgt gac ctg ccc gaa ctg gac ggc cac ggc cac 384
Ser Trp Val Ala Arg Arg Asp Leu Pro Glu Leu Asp Gly His Gly His
115 120 125
aac aag atc aag ccg atg aag gcc gct gcc ggc ttc cac gtc tgc gcc 432
Asn Lys Ile Lys Pro Met Lys Ala Ala Ala Gly Phe His Val Ser Ala
130 135 140
ggc aag aac ccg atc ggc ctg ccc gtc cgc ggc tgc gat ctg gag atc 480
Gly Lys Asn Pro Ile Gly Leu Pro Val Arg Gly Cys Asp Leu Glu Ile
145 150 155 160
ggc ggc aag gtc gtg gac atc tgg gtc gac atc ccc gag cag atg gcc 528
Ala Gly Lys Val Val Asp Ile Trp Val Asp Ile Pro Glu Glu Met Ala
165 170 175
cgc ttc ctg gag gtc gaa ctg aag gac ggc tgc acc cgc ctg ctg cgc 576
Arg Phe Leu Glu Val Glu Leu Lys Asp Gly Ser Thr Arg Leu Leu Pro
180 185 190
atg cag atg gtc aag gtc cag tgc aac cgc gtt cat gtc aac ggc ctg 624
Met Glu Met Val Lys Val Glu Ser Asn Arg Val His Val Asn Ala Leu
195 200 205
tgc tcc gac ctg ttc ggc ggc atc ccg acg atc aag tcc acc gag 672
Ser Ser Asp Leu Phe Ala Gly Ile Pro Thr Ile Lys Ser Pro Thr Glu
210 215 220
gtc acg ctg ctg gaa gag gac aag atc tgc ggc tac gtc ggc ggc 720
Val Thr Leu Leu Glu Glu Asp Lys Ile Cys Gly Tyr Val Ala Gly Gly
225 230 235 240
ctg atg tat gcc ggc ccg aag cgc aag tgc gtc gtc ggc ggc atg ctg 768
Leu Met Tyr Ala Ala Pro Lys Arg Lys Ser Val Val Ala Ala Met Leu
245 250 255
ggc gaa tac gcc cac cac cac cac cac tga 801
Ala Glu Tyr Ala His His His His His
260 265

<210> 4
<211> 266
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Oligo-histidine tagged subunit H

<400> 4
Met Val Gly Val Thr Ala Phe Gly Asn Phe Asp Leu Ala Ser Leu Ala

19	(11)	20	(12)	22
1	5	10	15	15
Ile Tyr Ser Phe Trp Ile Phe Leu Ala Gly Leu Ile Tyr Tyr Leu Gln				
20	25	30		
Thr Glu Asn Met Arg Glu Gly Tyr Pro Leu Glu Asn Glu Asp Gly Thr				
35	40	45		
Pro Ala Ala Asn Gln Gly Pro Phe Pro Leu Pro Lys Pro Lys Thr Phe				
50	55	60		
Ile Leu Pro His Gly Arg Gly Thr Leu Thr Val Pro Gly Pro Glu Ser				
65	70	75		
Glu Asp Arg Pro Ile Ala Leu Ala Arg Thr Ala Val Ser Glu Gly Phe				
85	90	95		
Pro His Ala Pro Thr Gly Asp Pro Met Lys Asp Gly Val Gly Pro Ala				
100	105	110		
Ser Trp Val Ala Arg Arg Asp Leu Pro Glu Leu Asp Gly His Gly His				
115	120	125		
Asn Lys Ile Lys Pro Met Lys Ala Ala Ala Gly Phe His Val Ser Ala				
130	135	140		
Gly Lys Asn Pro Ile Gly Leu Pro Val Arg Gly Cys Asp Leu Glu Ile				
145	150	155		
Ala Gly Lys Val Val Asp Ile Trp Val Asp Ile Pro Glu Gln Met Ala				
165	170	175		
Arg Phe Leu Glu Val Glu Leu Lys Asp Gly Ser Thr Arg Leu Leu Pro				
180	185	190		
Met Gln Met Val Lys Val Gln Ser Asn Arg Val His Val Asn Ala Leu				
195	200	205		
Ser Ser Asp Leu Phe Ala Gly Ile Pro Thr Ile Lys Ser Pro Thr Glu				
210	215	220		
Val Thr Leu Leu Glu Glu Asp Lys Ile Cys Gly Tyr Val Ala Gly Gly				
225	230	235		
Leu Met Tyr Ala Ala Pro Lys Arg Lys Ser Val Val Ala Ala Met Leu				
245	250	255		
Ala Glu Tyr Ala His His His His His				
260	265			
<210> 5				
<211> 849				
<212> DNA				
<213> Rhodobacter sphaeroides				
<220>				
<221> CDS				
<222> (1)..(846)				
<400> 5				
atg gca ctg ctc agc ttc gag cga aaa tat cgc gtg ccg ggg ggc acg				48
Met Ala Leu Leu Ser Phe Glu Arg Lys Tyr Arg Val Pro Gly Gly Thr				
1	5	10	15	
ctg gtc ggc gga aac ctg ttc gac ttc tgg gtc ggc cct ttc tat gtc				96
Leu Val Gly Gly Asn Leu Phe Asp Phe Trp Val Gly Pro Phe Tyr Val				
20	25	30		
21				
ggc ttc ttc ggg gtt ggc aag ttt ttc ttc ggc gcc ctg ggt atc att				144
Gly Phe Phe Gly Val Ala Thr Phe Phe Ala Ala Leu Gly Ile Ile				
35	40	45		
ctg att gcc tgg agt gcc gta ctc cag ggt acc tgg aac ccc caa ctc				192
Leu Ile Ala Trp Ser Ala Val Leu Gln Gly Thr Trp Asn Pro Gln Leu				
50	55	60		
atc tct gtc tac ccg gcc ctt gaa tat ggc ctg ggc ggt gca ccc				240
Ile Ser Val Tyr Pro Pro Ala Leu Glu Tyr Gly Leu Gly Ala Pro				
65	70	75		
ctc gca aaa ggc ggg ctg tgg cag atc atc aag atc tgc gcc act ggt				288
Leu Ala Lys Gly Gly Leu Trp Gln Ile Ile Thr Ile Cys Ala Thr Gly				
85	90	95		
ggc ttc gtc agc tgg ggc ctg cgc gaa gtc gaa atc tgc cgt aag ctg				336
Ala Phe Val Ser Trp Ala Leu Arg Glu Val Glu Ile Cys Arg Lys Leu				
100	105	110		
ggc atc ggg tac cac atc ccg ttc gcc ttc gcc ctg gcc atc ctg gcc				384
Gly Ile Gly Tyr His Ile Pro Phe Ala Phe Ala Phe Ala Ile Leu Ala				
115	120	125		
tac ctg aag ctg gtg ctg ttc cgc ccg gtg atg atg ggc gcc tgg ggc				432
Tyr Leu Thr Leu Val Leu Phe Arg Pro Val Met Met Gly Ala Trp Gly				
130	135	140		
tat gcc ttc ccc tac ggg atc tgg aag cac ctg gcc tgg gtc tgc aac				480
Tyr Ala Phe Pro Tyr Gly Ile Trp Thr His Leu Asp Trp Val Ser Asn				
145	150	155		
aag ggc tac acc tac ggc aac ttc cac tac aac cct gcc cac atg atc				528
Thr Gly Tyr Thr Tyr Gly Asn Phe His Tyr Asn Pro Ala His Met Ile				
165	170	175		
ggc atc tgc ttc ttc ttc aag aac ggc ctg gct ctg ggc ctg cac ggc				576
Ala Ile Ser Phe Phe Phe Thr Asn Ala Leu Ala Leu His Gly				
180	185	190		
ggc ctt gtg ctc tcc ggc gcc aac ccc aag aag ggc aag gaa atg cgg				624
Ala Leu Val Leu Ser Ala Ala Asn Pro Glu Lys Gly Lys Glu Met Arg				
195	200	205		
aag ccg gat cac ggg gat aag ttc ttc cgc gat ctg gtc ggc tac tgc				672
Thr Pro Asp His Glu Asp Thr Phe Phe Arg Asp Leu Val Gly Tyr Ser				
210	215	220		
atc ggg aag ctg ggc atc cac cgc ctg ggc ctg ctg ctg ctg agc				720
Ile Gly Thr Leu Gly Ile His Arg Leu Gly Leu Leu Ser Leu Ser				
225	230	235		
ggc gtc ttc ttc agc gcc ctc tgc atg atc att acc ggc acc atc tgg				768
Ala Val Phe Phe Ser Ala Leu Cys Met Ile Ile Thr Gly Thr Ile Trp				
245	250	255		
ttc gat cag tgg gtc gac tgg tgg caa tgg tgg gtg aag ctg ccg tgg				816
Phe Asp Gln Trp Val Asp Trp Trp Gln Trp Val Lys Leu Pro Trp				
260	265	270		
tgg ggc aac atc ccg gga ggc atc aat ggc tga				849
Trp Ala Asn Ile Pro Gly Gly Ile Asn Gly				
275	280			
<210> 6				

(13)
<21> 282
<212> PRT
<213> Rhodobacter sphaeroides

<400> 6
Met Ala Leu Leu Ser Phe Glu Arg Lys Tyr Arg Val Pro Gly Gly Thr
1 5 10 15
Leu Val Gly Gly Asn Leu Phe Asp Phe Trp Val Gly Pro Phe Tyr Val
20 25 30
Gly Phe Phe Gly Val Ala Thr Phe Phe Ala Ala Leu Gly Ile Ile
35 40 45
Leu Ile Ala Trp Ser Ala Val Leu Glu Gly Thr Trp Asn Pro Glu Leu
50 55 60
Ile Ser Val Tyr Pro Pro Ala Leu Glu Tyr Gly Leu Gly Ala Pro
65 70 75 80
Leu Ala Lys Gly Gly Leu Trp Glu Ile Ile Thr Ile Cys Ala Thr Gly
85 90 95
Ala Phe Val Ser Trp Ala Leu Arg Glu Val Glu Ile Cys Arg Lys Leu
100 105 110
Gly Ile Gly Tyr His Ile Pro Phe Ala Phe Ala Phe Ala Ile Leu Ala
115 120 125
Tyr Leu Thr Leu Val Leu Phe Arg Pro Val Met Gly Ala Trp Gly
130 135 140
Tyr Ala Phe Pro Tyr Gly Ile Trp Thr His Leu Asp Trp Val Ser Asn
145 150 155 160
Thr Gly Tyr Thr Tyr Gly Asn Phe His Tyr Asn Pro Ala His Met Ile
165 170 175
Ala Ile Ser Phe Phe Thr Asn Ala Leu Ala Leu Ala Leu His Gly
180 185 190
Ala Leu Val Leu Ser Ala Ala Asn Pro Glu Lys Gly Lys Glu Met Arg
195 200 205
Thr Pro Asp His Glu Asp Thr Phe Phe Arg Asp Leu Val Gly Tyr Ser
210 215 220
Ile Gly Thr Leu Gly Ile His Arg Leu Gly Leu Leu Ser Leu Ser
225 230 235 240
Ala Val Phe Phe Ser Ala Leu Cys Met Ile Ile Thr Gly Thr Ile Trp
245 250 255
Phe Asp Glu Trp Val Asp Trp Trp Glu Trp Val Lys Leu Pro Trp
260 265 270
Trp Ala Asn Ile Pro Gly Gly Ile Asn Gly
275 280

<210> 7
<211> 927
<212> DNA
<213> Rhodobacter sphaeroides
<220>
<221> CDS
<222> (1).. (924)

<400> 7
atg gct gag tat cag aac atc ttc tcc cag gtc cag ggc cag 48
Met Ala Glu Tyr Glu Asn Ile Phe Ser Glu Val Glu Val Arg Gly Pro
1 5 10 15
gcc gac ctg ggg atg acc gaa gac gtc aac cgc gcc aac cgt tgc ggc 96
Ala Asp Leu Gly Met Thr Glu Asp Val Asn Leu Ala Asn Arg Ser Gly
20 25 30
gtc ggt ccc ttc tgg acc ctg ctg ggc tgg ctg ggc aac gcc cag ctg 144
Val Gly Pro Phe Ser Thr Leu Leu Gly Trp Phe Gly Asn Ala Glu Leu
35 40 45
ggc ccg atc tat ctg ggc tgc ctg ggc gtc ctg tcc ctg ttc tgc ggc 192
Gly Pro Ile Tyr Leu Gly Ser Leu Gly Val Leu Ser Leu Phe Ser Gly
50 55 60
ctg atg tgg ttc ttc acc atc ggg atc tgg ttc tgg tat cag ggc ggc 240
Leu Met Trp Phe Thr Ile Gly Ile Trp Phe Trp Tyr Glu Ala Gly
65 70 75 80
tgg aac ccg gcc gtc ttc ctg cgc gac ctg ttc ttc ttc tgc ctg gag 288
Trp Asn Pro Ala Val Phe Leu Arg Asp Leu Phe Phe Ser Leu Glu
85 90 95
ccg ccg gca ccc gaa tac ggt ctg ttc ttc ggc gct ccg ctg aag gaa 336
Pro Pro Ala Pro Glu Tyr Gly Leu Ser Phe Ala Ala Pro Leu Lys Glu
100 105 110
ggc ggg ctg tgg ctg atc ggc tgc ttc ttc atg ttc gtc ggc gtc tgg 384
Gly Gly Leu Trp Leu Ile Ala Ser Phe Met Phe Val Ala Val Trp
115 120 125
tcc tgg tgg ggc cgc acc tat ctg cgc gct cag ggc ctg ggc atg ggc 432
Ser Trp Trp Gly Arg Thr Tyr Leu Arg Ala Glu Ala Leu Gly Met Gly
130 135 140
aag cac acc gcc tgg tgg ttc ctg tgc gcc atc tgg ctg tgg atg gtc 480
Lys His Thr Ala Trp Ala Phe Leu Ser Ala Ile Trp Leu Trp Met Val
145 150 155 160
ctg ggc ttc atc cgt ccg atc ctg atg ggg tcc tgg tgc gaa ggc gtt 528
Leu Gly Phe Ile Arg Pro Ile Leu Met Gly Ser Trp Ser Glu Ala Val
165 170 175
ccc tac ggc atc ttc tgc cac ctg gac tgg acg aac aac ttc tgc ctg 576
Pro Tyr Gly Ile Phe Ser His Leu Asp Trp Thr Asn Asn Phe Ser Leu
180 185 190
gtc cac ggc aac ctg ttc tac aac ccc ttc cac ggt ctg tgc atc gcc 624
Val His Gly Asn Leu Phe Tyr Asn Pro Phe His Gly Leu Ser Ile Ala
195 200 205
ttc ctg tac ggg tgc gcc ctg ctg ttc tgc atg cac ggt ggc acc atc 672
Phe Leu Tyr Gly Ser Ala Leu Leu Phe Ala Met His Gly Ala Thr Ile
210 215 220
ctc ggc gtc tcc cgc ttc ggc ggc ggc ggc ggc ggc ggc ggc atc gcc 720
Leu Ala Val Ser Arg Phe Gly Gly Glu Arg Glu Leu Glu Glu Ile Ala
225 230 235 240
gac cgc ggg acg gca ggc ggc gcc gcc ctg ttc tgg cgc tgg acc 768
Asp Arg Gly Thr Ala Ala Glu Arg Ala Leu Phe Trp Arg Thr
245 250 255

27
atg ggt ttc aac gcc acc atg gaa ggc atc cac cgc tgg gcc atc tgg 28
Met Gly Phe Asn Ala Thr Met Glu Gly Ile His Arg Trp Ala Ile Trp 816
260
atg gcg gtc ctg gtc acc ctg acc ggc ggc atc ggc atc ctg ctg ctg 864
Met Ala Val Leu Val Thr Leu Thr Gly Gly Ile Gly Ile Leu Leu Ser 270
275
ggc acg gtc gtc gac aac tgg tac gtc tgg ggc cag aac cac ggc atg 912
Gly Thr Val Val Asp Asn Trp Tyr Val Trp Gly Glu Asn His Gly Met 285
290
ggc ccg ctg aac tga 300
Ala Pro Leu Asn 927
305

<210> 8
<211> 308
<212> PRT
<213> Rhodactar sphaeroides

<400> 8
Met Ala Glu Tyr Glu Asn Ile Phe Ser Glu Val Val Arg Gly Pro
1 5 10 15
Ala Asp Leu Gly Met Thr Glu Asp Val Asn Leu Ala Asn Arg Ser Gly
20 25 30
Val Gly Pro Phe Ser Thr Leu Leu Gly Trp Phe Gly Asn Ala Glu Leu
35 40 45
Gly Pro Ile Tyr Leu Gly Ser Leu Gly Val Leu Ser Leu Phe Ser Gly
50 55 60
Leu Met Trp Phe Phe Thr Ile Gly Ile Trp Phe Trp Tyr Glu Ala Gly
65 70 75 80
Trp Asn Pro Ala Val Phe Leu Arg Asp Leu Phe Phe Ser Leu Glu
85 90 95
Pro Pro Ala Pro Glu Tyr Gly Leu Ser Phe Ala Ala Pro Leu Lys Glu
100 105 110
Gly Gly Leu Trp Leu Ile Ala Ser Phe Met Phe Val Ala Val Trp
115 120 125
Ser Trp Trp Gly Arg Thr Tyr Leu Arg Ala Glu Leu Gly Met Gly
130 135 140
Lys His Thr Ala Trp Ala Phe Leu Ser Ala Ile Trp Leu Trp Met Val
145 150 155 160
Leu Gly Phe Ile Arg Pro Ile Leu Met Gly Ser Trp Ser Glu Ala Val
165 170 175
Pro Tyr Gly Ile Phe Ser His Leu Asp Trp Thr Asn Asn Phe Ser Leu
180 185 190
Val His Gly Asn Leu Phe Tyr Asn Pro Phe His Gly Leu Ser Ile Ala
195 200 205
Phe Leu Tyr Gly Ser Ala Leu Leu Phe Ala Met His Gly Ala Thr Ile
210 215 220
Leu Ala Val Ser Arg Phe Gly Gly Glu Arg Glu Leu Glu Glu Ile Ala
225 230 235 240
Asp Arg Gly Thr Ala Ala Glu Arg Ala Ala Leu Phe Trp Arg Trp Thr

29
245
Met Gly Phe Asn Ala Thr Met Glu Gly Ile His Arg Trp Ala Ile Trp 250
260
Met Ala Val Leu Val Thr Leu Thr Gly Gly Ile Gly Ile Leu Leu Ser 255
275
Gly Thr Val Val Asp Asn Trp Tyr Val Trp Gly Glu Asn His Gly Met 265
290
Ala Pro Leu Asn 300
305

<210> 9
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> synthetic DNA

<400> 9
atggttgggtg tgaattgctt 20

<210> 10
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> synthetic DNA

<400> 10
tcaggcgtat tcggccagca 20

<210> 11
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> synthetic DNA

<400> 11
atggactgc tcagtttcga 20

<210> 12
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> synthetic DNA

31	(17)	特開2001-83155
<400> 12	tcagcatcg atgcctccg	20
<210> 13		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> synthetic DNA		
<400> 13		20
atggcgggc atcagaacat		
<210> 14		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> synthetic DNA		
<400> 14		20
tcagtcagc gggcctatgc		
<210> 15		
<211> 105		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> synthetic DNA		
<400> 15		60
agatctgcgg ctacgtgcgc ggcgacctgga tctatgcgc gcggaagcgc aagtcggtcg		60
tggggcgcat gctggccgaa taagcccaac accacaccca ccaact		105
<210> 16		
<211> 106		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> synthetic DNA		
<400> 16		106
ggatccgggt gggggggggg tctgattcgg atcgggtcgg ggaaggaatgc ggcgggccc		60
gcggggggccc gcgcattcgc gggatcattg gtggtagtgg tggtagg		106

33	(18)	特開2001-83155
<210> 17		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> synthetic DNA		
<400> 17		20
agatctgcgg ctacgtgcgc		
<210> 18		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> synthetic DNA		
<400> 18		20
ggatccgggt gggggggggg		

【0039】

【配列表フリーテキスト】配列番号3：オリゴヒスチジンでタグ付けされたHサプユニットをコードする遺伝子

配列番号4：オリゴヒスチジンでタグ付けされたHサプユニット

配列番号9：合成DNA

配列番号10：合成DNA

配列番号11：合成DNA

配列番号12：合成DNA

配列番号13：合成DNA

配列番号14：合成DNA

配列番号15：合成DNA

配列番号16：合成DNA

配列番号17：合成DNA

配列番号18：合成DNA

【図面の簡単な説明】

【図1】一般的な表面プラズモン共鳴測定用チップの概略図である。

【図2】ネイテイルな光合成反応中心タンパク質のロドバクター・スフェロイテスの細胞膜表面上での存在状態を示した図である。

【図3】本発明のヒスチンタグ付き光合成反応中心タンパク質を固定化した表面プラズモン共鳴測定用チップである。

【図4】ヒスチンタグ付き光合成反応中心タンパク質のチップ基座への結合メカニズムを示した図である。

【図5】本発明の測定用チップを装着した表面プラズモン共鳴測定装置の概念図である。

【図6】ヒスチンタグ付き光合成反応中心タンパク質発現ベクターの構造を示した図である。

【図7】本発明の測定用チップを装着したSPR装置を用いてアトラジンを測定した場合の結果を示した図である。

【符号の説明】

1・・・ガラス基板

2・・・金属膜

3・・・多孔性材料

4・・・リガンド

5・・・WGAセンサーチップ

6・・・ニッケルイオン

7・・・ヒスチンタグ

8・・・光合成反応中心タンパク質

9・・・光源

10・・・検出器

11・・・入射光

12・・・反射光

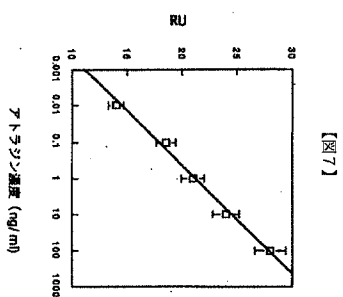
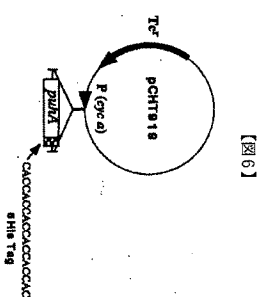
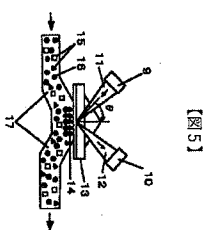
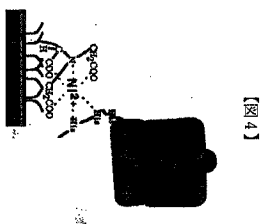
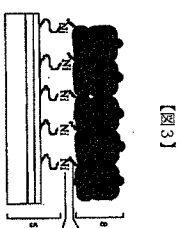
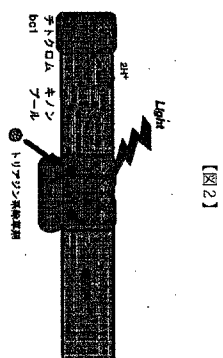
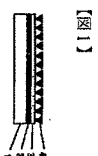
13・・・測定用チップ

14・・・リガンド

15・・・発達物質

16・・・測定対象物質

17・・・流路



フロントページの続き

(72) 發明者 三宅 淳
茨城県つくば市東1丁目1番4 工業技術
院 産業技術融合領域研究所内

(72) 發明者 中村 史
茨城県つくば市東1丁目1番4 工業技術
院 産業技術総合領域研究所内
Fターム(參考) 26055 AA01 CC20 DD03 DD13 EE04
JJ12